EIN BEITRAG

ZUR ERFORSCHUNG DER CONSTITUTION

DES

EIWEISSMOLEKÜLS.

INAUGURAL-DISSERTATION

DER

MEDICINISCHEN FAKULTÄT ZU BASEL

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

IN DER

MEDICIN, CHIRURGIE UND GEBURTSHÜLFE

VORGELEGT VON

FRIEDRICH PRÖSCHER
AUS DARMSTADT.

DARMSTADT 1899
BUCHDRUCKEREI V A L. S A C H S.

EIN BEITRAG

ZUR ERFORSCHUNG DER CONSTITUTION

DES

EIWEISSMOLEKÜLS.

INAUGURAL-DISSERTATION

DER

MEDICINISCHEN FAKULTÄT ZU BASEL

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

IN DER

MEDICIN, CHIRURGIE UND GEBURTSHÜLFE

VORGELEGT VON

FRIEDRICH PRÖSCHER
AUS DARMSTADT.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

DARMSTADT 1899
BUCHDRUCKEREI V A L. S A C H S.

Meinem verehrten Lehrer

Herrn Prof. Dr. v. Bunge

in Hochachtung und Dankbarkeit gewidmet.

Ein Beitrag zur Erforschung der Constitution des Eiweissmoleküls.

Bei den bisherigen Untersuchungen über die Constitution des Eiweissmoleküls sind zwei Punkte vernachlässigt worden. Erstens ist man nicht von reinem krystallisiertem Eiweiss ausgegangen, und zweitens hat man eine möglichst genaue quantitative Bestimmung der bis jetzt bekannten Spaltungsprodukte unterlassen.

Werfen wir zunächst einen Blick auf die einschlägige Litteratur. Von den älteren Arbeiten sind zunächst die von Hlasiwetz[1]) und Habermann zu erwähnen. Dieselben wandten zur Spaltung des Eiweisses Zinnchlorür und Salzsäure an, um eine nicht zu tief greifende Zersetzung der einzelnen Spaltungsprodukte herbeizuführen und das Auftreten von gasförmigen Produkten zu vermeiden. Diese Methode hat sich bei der Untersuchung der Eiweisskörper ausgezeichnet bewährt und später zur Entdeckung wichtiger und interessanter Spaltungsprodukte beigetragen. Ferner kommen hier die Untersuchungen Schützenbergers[2]) in Betracht, die

[1]) Hlasiwetz und Habermann, „Ueber die Proteinstoffe". Annalen der Chemie und Pharmacie Bd. 169, 150, 159, S. 304—333. Wiener Anzeiger 1873 Nr. 15. Wiener Akademie 1872, pag. 114.

[2]) „Recherches sur l'albumine et les matières albuminoides par M. Schützenberger". Bull. de la Soc. chim. Bd. 23, S. 161, 193, 216, 242, 385, 433, 242; Bd. 24, S. 2, 145; Bd. 25, S. 147.

M. Schützenberger und A. Bourgois, „Recherches sur la constitution des matières collagènes". Compt rend. 82, 262.

M. Schützenberger, „Abhandlung über die Eiweisskörper", Annales de chim. et phys. Bd. 5, S. 16, 289—419.

M. Schützenberger, „Essai sur la synthèse des matières proteigènes". Compt rend. Bd. 112, S. 198—201.

Siehe auch chemisches Centralblatt 1875, S. 614, 631, 648, 681 und 696; 1876 S. 280; 1877 S. 181.

sich dadurch auszeichnen, dass eine vollkommene Spaltung des Eiweisses erreicht wurde ohne Bildung syrupöser, nicht weiter definierbarer Substanzen, und durch die Gewichtsbestimmung sämmtlicher aus einer abgewogenen Menge Eiweisssubstanz gebildeter Spaltungsprodukte. Schützenberger verwandte zur vollständigen Spaltung der Eiweisskörper Ätzbaryt, welcher in 3—4 Teilen Wasser gelöst wurde. Das Ganze wurde dann in hermetisch verschlossenen Gefässen auf 160—200° während der Dauer von 4—6 Tagen erhitzt. Das Eiweissmolekül zerfällt hierbei unter Wasseraufnahme.

Beide Prozesse [3]) haben das gemeinsam, dass Ammoniak und Amidosäuren gebildet werden; aber sie differieren wesentlich darin, dass bei der Einwirkung von Baryt Essigsäure, Oxalsäure und Kohlensäure gebildet werden, bei der Einwirkung von Salzsäure und Zinnchlorür nicht. Dass Kohlensäure bei der Spaltung mit Salzsäure sich nicht entwickelt, davon habe auch ich mich durch den Versuch überzeugt und Drechsel's Untersuchungen haben dies ebenfalls bestätigt. Die Quelle oder eine der Quellen der CO_2— Entwickelung bei der Barytspaltung sind die von Drechsel gefundenen Basen Lysatin und Lysatinin. Ausgezeichnete Untersuchungen auf dem Gebiet der Eiweisschemie haben wir Schulze [4]) und seinen Schülern zu verdanken. Schulze hat unter den Spaltungsprodukten der Eiweisskörper die Phenylamidopropionsäure und das Arginin nachgewiesen. Ferner verdanken wir ihm eine genaue und eingehende Untersuchung der einzelnen Spaltungsprodukte in Bezug auf Löslichkeitsverhältnisse und

[3]) E. Drechsel, „Zur Kenntniss der Spaltungsprodukte des Caseins". Abdruck aus den Sitzungsberichten der mathem.-phys. Classe der k. sächs. Gesellschaft der Wissenschaften, pag. 118—121; auch Journal für praktische Chemie N. F. 39, 425—429.

[4]) E. Schulze, „Ueber die Amidosäuren, welche bei der Zersetzung der Eiweissstoffe durch Salzsäure und Barytwasser entstehen". Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 9, S. 63—126 und 253—259. E. Schulze u. Babieri. „Ueber das Vorkommen von Phenylamidopropionsäure unter den Zersetzungsprodukten der Eiweissstoffe". Berichte der d. chem. Gesellsch. Bd. 14, S. 1785—1791. E. Schulze u. Steiger, „Ueber das Arginin", Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 11, S. 43—65. Ber. der d. chem. Ges., Bd. 19, S. 1170—1180.

Drehungsvermögen und eine Vergleichung der mit Salzsäure und Barythydrat erhaltenen Produkte. Durch die interessanten und wichtigen Arbeiten Drechsels und seiner Schüler ist die Chemie der Eiweisskörper einen grossen Schritt vorwärts gekommen und dem Problem der Constitution des Eiweissmoleküls wieder erhöhte Aufmerksamkeit geschenkt worden. Drechsel spaltete das Eiweissmolekül mit Zinnchlorür und Salzsäure und fand in dem von Zinn befreiten Reaktionsprodukt zwei durch Phosphorwolframsäure fällbare Basen, das Lysatin und Lysatinin. Letztere Base ist dadurch interessant, dass sie beim Kochen mit Ätzbaryt Harnstoff abspaltet.

Auf Anregung von Prof. v. Bunge habe ich es nun versucht, das Eiweissmolekül abzubauen unter Berücksichtigung der oben erwähnten Punkte.

Als Ausgangsmaterial zur Untersuchung wurde krystallisiertes Hämoglobin verwendet. Dasselbe wurde nach der Methode von Zynoffsky [5]) dargestellt und doppelt umkrystallisiert. Ich versuchte zuerst das Eiweiss des Hämoglobins vom Hämatin zu trennen. Das Ausziehen des Hämatins mit alkoholischem Ammoniak ist äusserst umständlich und erfordert für kleine Mengen Hämoglobin viel Alkohol. Ich wandte folgende Methode an, um das Eiweiss des Hämoglobins vom Hämatin zu trennen: Das noch feuchte Hämoglobin wird einige Zeit an der Luft stehen gelassen, oder es wird ein Luftstrom durchgeleitet, um den Alkohol zu entfernen. Darauf wird das Hämoglobin mit 10—12 % Salzsäure digeriert und auf dem Wasserbade bei einer Temperatur von 45—50 ° das Eiweiss extrahiert. Das Hämatin bleibt ungelöst am Boden des Gefässes; man decantiert die Flüssigkeit ab und neutralisiert mit Natronlauge und kocht; das Eiweiss fällt in grauweissen Flocken aus. Man extrahiert nun das zurückgebliebene Hämatin solange mit Salzsäure, bis bei der Neutralisation keine Trübung mehr entsteht. Diese Methode ist zur Gewinnung kleiner

[5]) C. Zinoffsky, „Ueber die Grösse des Hämoglobinmoleküls". Zeitschr. für physiolog. Chemie 1886 Bd. 10, S. 16—34.

Mengen Eiweiss verwendbar, aber, um grössere Quantitäten darzustellen, zu zeitraubend. Ich habe deshalb diese Methode wieder verlassen und das Hämoglobin direkt mit Zinnchlorür und Salzsäure zerlegt. Das Hämoglobin wurde nicht frisch verarbeitet, sondern erst getrocknet, dann möglichst fein pulverisiert und in die kochende Lösung von Zinnchlorür und Salzsäure allmählich eingetragen. Zum Erhitzen wurde eine Glasretorte angewandt, die mit einem Rückflusskühler versehen wurde. Zur Verwendung kamen 240 gr. doppelt umkrystallisiertes bei 120° getrocknetes Hämoglobin, das in 1100 cm^3 einer circa 20 % Salzsäure, welcher 50 gr. Zinnchlorür zugesetzt waren, 76 Stunden lang am Rückflusskühler erhitzt wurde. Das dunkelrotbraune Reaktionsprodukt wurde nun auf ca. 5 l. verdünnt, und das Zinn mit Schwefelwasserstoff ausgefällt. Das Filtrat war schwach weingelb gefärbt. Das Hämatin bleibt fast ganz ungelöst und findet sich als feinkörniges Pulver am Boden des Gefässes. Die geringe Menge, welche mit in Lösung geht, wird durch das Schwefelzinn mit niedergerissen, so dass die Lösung nach dem Filtrieren fast völlig farblos ist. Sodann wurde das Filtrat auf dem Wasserbade etwas eingeengt und darauf mit 1500 gr. krystallisierter Phosphorwolframsäure [6]) versetzt, die in wenig Wasser gelöst war, wobei der anfangs entstehende Niederschlag sich löste und erst bei weiterem Zusatz von Phosphorwolframsäure abschied. Das Ganze wurde erkalten gelassen, wobei die halbflüssige Masse zu einem teils körnigen, teils krystallinischen Brei erstarrte. Der Niederschlag wurde abgesaugt und mit 5 % Schwefelsäure, welche mit Phosphorwolframsäure versetzt war, Chlor-frei gewaschen. Der Chlorfreie Niederschlag wurde dann in heissem Wasser suspendiert, wobei ein Teil sich löste. Die kochende Lösung wurde mit einem geringen Ueberschuss von Barythydrat versetzt und einige Minuten im Sieden erhalten. Nach dem

[6]) M. Siegfried, „Zur Kenntnis der Spaltungsprodukte der Eiweisskörper". Ber. der d. chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 418—432.
E. Fischer, „Ueber Spaltungsprodukte des Leims". Inaug.-Dissert. 1890.

Erkalten wurde filtriert, das Filtrat mit Kohlensäure gesättigt, 15 Minuten zur Abscheidung des kohlensauren Baryums erwärmt und filtriert. Das Filtrat wurde mit einer Lösung von 40 gr. salpetersaurem Silber versetzt. Sogleich fiel ein amorpher gelbweisser Niederschlag aus, der nach 24 Stunden abfiltriert, Salpetersäure-frei gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet wurde.

Die Menge des Niederschlags betrug 15,7275 gr. = 6,533 % der ursprünglichen Hämoglobinmenge.

Die Analyse ergab folgende Werte:

0,1760 gr. Subst. gaben: 0,0335 H_2O
und 0,1230 CO_2
0,1595 gr. Subst. gaben: 16,5 cm^3 N bei 22 ° u. 738,8 mm Hg.
0,1640 gr. Subst. gaben: 0,0932 Ag.

19,03 % C
2,21 % H
11,35 % N
10,59 % O
56,82 % Ag.

Das Filtrat von diesem Niederschlag war schwach trüb und wurde auf dem Wasserbade zum dünnen Syrup eingedampft, wobei sich ein Teil des Silbers als schwarzer schmieriger Niederschlag abschied. Derselbe wurde abfiltriert, und das weingelbe Filtrat allmählich mit Alkohol versetzt. Nach einiger Zeit entstand ein schwach gelbweisser, amorpher Niederschlag, der sich nach mehrstündigem Stehen nicht vermehrt hatte. Es wurde nun Äther zugegeben und einige Tage stehen gelassen. Der Niederschlag hatte sich noch etwas vermehrt. Derselbe wurde abgesaugt, mit Alkohol und Äther gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet.

Die Menge des Niederschlags betrug 1,9087 gr. = 0,795 %.

0,1759 gr. Subst. gaben: 0,0380 gr. H_2O
und 0,1265 gr. CO_2
0,2215 gr. Subst. gaben: 38,5 cm^3 N bei 22 ° u. 738,8 mm Hg.
0,0382 gr. Subst. gaben 0,0197 Ag.

19,55 % C
2,40 % H
19,097 % N
7,383 % O
51,57 % Ag.

Das Filtrat von diesem Niederschlag gab auf weiteren Zusatz von Äther keinen Niederschlag mehr. Es wurde nun der grösste Teil des Äthers und Alkohols auf dem Wasserbade abdestilliert, filteriert und nochmals mit Äther und Alkohol versetzt. Sofort fiel ein weissgelber amorpher Niederschlag aus, welcher nach 24-stündigem Stehen abgesaugt, mit Alkohol und Äther gewaschen und getrocknet wurde.

Die Menge des Niederschlags betrug 2,1480 gr. = 0,895 %.

Die Analyse ergab folgende Werte:

0,1590 gr. Subst. gaben 0,0310 gr. H_2O und 0,1240 gr. CO_2
0,2655 gr. Subst. gaben 36 cm^3 N bei 22 ° und 738,8 mm Hg.
0,1640 gr. Subst. gaben 0,0932 gr. Ag.

21,25 % C
2,14 % H
14,887 % N
12,873 % O
48,85 % Ag.

Das Filtrat von letzterem Niederschlag wurde nochmals der Destilation unterworfen und gab auf abermaligen Zusatz von Aether nur noch eine geringe Menge Niederschlag. Eine genauere Untersuchung der einzelnen Silbersalze werde ich noch ausführen. Die vorliegenden Mengen waren zu gering, um eingehendere Studien damit anzustellen. Der Alkohol und Aether wurde nun auf dem Wasserbade völlig verjagt, der zurückbleibende Syrup mit Wasser verdünnt und mit Schwefelwasserstoff behandelt, um den Rest des Silbers auszufällen. Nachdem die Flüssigkeit durch Erwärmen vom Schwefelwasserstoff befreit war, wurde dieselbe zum dicken Syrup eingedampft, mit absolutem Alkohol behandelt, wobei sie sich fast völlig löste. Die Lösung wurde nun mit alkoholischer Quecksilberchloridlösung [7]) versetzt. Es entstand nach einiger Zeit ein weisser, flockiger Niederschlag, der einige Tage stehen blieb, dann filtriert und mit Schwefelwasserstoff zerlegt wurde. Das

[7]) E. Schulze, „Ueber basische Stickstoffverbindungen aus dem Samen von Vicia sativa und Pisum sativ". Zeitschrift für physiolog. Chemie, pag. 140—161, 1891 Bd. 15 und 1893 Bd. 17, pag. 193—216.

Schwefelquecksilber wurde abfiltriert, und das Filtrat zur Trockene verdampft. Es hinterblieben 0,5680 gr. eines in weissen Blättchen krystallisierenden Körpers, welcher auf Cholin und Betain geprüft wurde, aber keine sichere Reaktion auf dieselben gab.

Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag.

Die überschüssige Phosphorwolframsäure wurde mit Barythydrat entfernt, das Filtrat mit Schwefelsäure versetzt, um den überschüssigen Baryt auszufällen, und mit kohlensaurem Blei behandelt, um den grössten Teil der Salzsäure zu entfernen. Das Bleichlorid wurde abfiltriert, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff entbleit, und der Rest der Salzsäure mit Silberoxyd entfernt. Die Salzsäure-freie Lösung wurde auf dem Wasserbade zum dicken Syrup eingedampft und einige Tage in der Kälte stehen gelassen, um das Tyrosin zur Abscheidung zu bringen. Der zu einem Brei erstarrte Syrup wurde nun in wenig Wasser gelöst, wobei das Tyrosin zurückblieb. Dasselbe wurde abfiltriert, mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen, bei 100 ° getrocknet und gewogen. Die Menge desselben betrug 3,639 gr. = 1,52 %, umkristallisiert aus verdünntem Ammoniak 1,7728 = 0,738 %. Die Stickstoffbestimmung nach Warrentrapp-Will ergab aus 0,0772 gr. Substanz 0,095 $PtCl_6(NH_4)_2$ = 7,64 % N. N aus der Formel des Tyrosins berechnet = 7,73 %.

Zur Trennung von Leucin, Glutaminsäure, Asparaginsäure und Phenylamidopropionsäure wurde folgendes Verfahren angewandt. Das Filtrat vom Tyrosin wurde auf ca. 2 Liter verdünnt und mit einer gesättigten Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd versetzt. Das salpetersaure Quecksilberoxyd fällt die Asparaginsäure, Glutaminsäure und einen Teil der Phenylamidopropionsäure [8]) aus, während das Leucin in Lösung bleibt. Der Niederschlag wird gut ausgewaschen, mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat

[8]) E. Schulze, „Ueber die Amidosäuren, welche bei der Zersetzung der Eiweissstoffe mit Salzsäure und Barytwasser entstehen". Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 9, S. 63—121.

eingeengt und mit einer ammoniakalischen Silberlösung versetzt. Der entstehende Niederschlag besteht, wie Siegfried[9]) gezeigt hat, aus asparaginsaurem Silber. Die auf diese Weise gewonnene Asparaginsäure betrug 0,4697 gr. = 0,1950%. Eine Stickstoffbestimmung war mir leider nicht möglich zu machen, da mir ein Teil der Substanz beim umkrystallisieren verloren ging. Aus dem Filtrat der Asparaginsäure wurde das Silber mit Schwefelwasserstoff entfernt und die Salpetersäure mit Bleioxydhydrat. Nach Entfernung des Bleies mit Schwefelwasserstoff wurde die Lösung mit Salzsäure versetzt und zwei Monate im Eisschrank stehen gelassen. Nach dieser Zeit hatte sich eine geringe Menge salzsaurer Glutaminsäure ausgeschieden, die abfiltriert, mit Silberoxyd zur Entfernung der Salzsäure behandelt, eingedampft und getrocknet wurde. Ihre Menge betrug: 0,0265 gr. = 0,011 % Glutaminsäure. Eine Stickstoffbestimmung auszuführen, war bei der geringen Menge nicht möglich. Das Filtrat der salzsauren Glutaminsäure wurde, nach Abscheidung der Salzsäure mit Silberoxyd, zur Prüfung auf Phenylamidopropionsäure verwandt. Da bis jetzt die Phenylamidopropionsäure nur in geringer Menge gefunden worden, und die Reingewinnung mit beträchtlichen Schwierigkeiten verbunden ist, sah ich von einer quantitativen Bestimmung ab. Es wurde der Rückstand mit chromsaurem Kali und Schwefelsäure am Rückflusskühler erhitzt. Nach wenigen Minuten trat der deutliche Geruch nach Benzaldehyd auf. Nach halbstündigem Kochen wurde die Flüssigkeit erkalten gelassen. Dieselbe hatte deutlichen Geruch nach Benzoesäure. Eine Ausscheidung der Benzoesäure fand wegen der geringen Menge nicht statt. Auch Ausschütteln mit Benzol ergab einen minimalen Rückstand, der keine deutliche Reaktion auf Benzoesäure zeigte.

Filtrat vom Quecksilberniederschlag.

In die vom ersten Quecksilberniederschlag abgelaufene Flüssigkeit wurde Schwefelwasserstoff eingeleitet zur Ent-

[9]) M. Siegfried, „Zur Kenntnis der Spaltungsprodukte der Eiweisskörper". Berichte der d. chem. Gesellsch., Bd. 24, S. 418—432.

fernung des Quecksilbers. Das Filtrat vom Schwefelquecksilber wurde mit Bleioxydhydrat behandelt, um die Salpetersäure zu entfernen, und eingedampft. Die Flüssigkeit erstarrte zu einem krystallinischen Brei, der der Hauptmenge nach aus Leucin bestand. Die ganze Masse wurde auf das Saugfilter gebracht, abgesaugt und mit wenig Wasser nachgewaschen. Das Filtrat wurde nochmals mit salpetersaurem Quecksilberoxyd versetzt. Es entstand noch ein geringer Niederschlag, welcher abfiltriert und mit Schwefelwasserstoff zersetzt wurde. Das Filtrat von Schwefelquecksilber gab mit ammoniakalischer Silberlösung keinen Niederschlag mehr; auch bei längerem Stehen im Eisschrank schieden sich keine Krystalle ab. Ich dampfte die Flüssigkeit ein und oxydierte den geringen Rückstand mit chromsaurem Kali und Schwefelsäure. Sogleich nach dem Erwärmen trat der deutliche Geruch nach Benzaldehyd auf. Nach halbstündigem Erhitzen wurde die Flüssigkeit erkalten gelassen, wobei sich eine geringe Menge Benzoesäure in feinen Blättchen ausschied. Die Flüssigkeit wurde dann mit Äther ausgeschüttelt, und der Äther verdunstet. Der Rückstand hatte stechenden Geruch nach Benzoesäure und gab mit Eisenchlorid den bekannten rostbraunen Niederschlag. Eine Schmelzpunktsbestimmung war wegen der geringen Menge nicht möglich, da beim Umkrystallisieren zu viel verloren gegangen wäre, und auch geringe Verunreinigungen den Schmelzpunkt bedeutend herabdrücken. Die vom zweiten Quecksilberniederschlag abgelaufene Flüssigkeit musste den Rest des Leucins enthalten und wurde wie oben behandelt. Diese Leucinmenge wurde mit der früher gewonnenen zusammen aus alkoholischem Ammoniak umkrystallisiert; die Summe beider Mengen betrug 100,077 gr. = 41,7 % Leucin. Die Stickstoffbestimmung ergab folgende Werte: 0,1380 gr. Subst. gaben 0,2300 gr. $PtCl_6(NH_4)_2$ = 10,43 % N. Die Formel des Leucins fordert 10,7 % N.

Hlasiwetz und Habermann fanden bei der Zersetzung des Eiweisses mit Zinnchlorür und Salzsäure: Chlorammon in dem erhaltenen Reaktionsprodukt. Sie nahmen an, dass

dasselbe von jenen im Eiweiss primär enthaltenen Verbindungen abstamme, welche gleichzeitig Asparaginsäure und Glutaminsäure liefern. Es ist wahrscheinlich der Stickstoff einer NH_2-Gruppe, welcher in Form von Ammoniak abgespalten wird.

Bei meinen Versuchen wurden zur Bestimmung des Ammoniaks 20 gr. Hämoglobin mit Zinchlorür und Salzsäure zersetzt und nach Ausfällung des Zinn auf 200 cm^3 verdünnt. 5 cm^3 der Lösung wurden mit Kalilauge versetzt, destilliert und das Ammoniak in Salzsäure aufgefangen.

I. 5 cm^3 der Lösung gaben 0,1810 $PtCl_6(NH_4)_2$ = 2,26% N des Hämoglobins.

II. 5 cm^3 der Lösung gaben 0,1837 $PtCl_6(NH_4)_2$ = 2,30% N des Hämoglobins.

Im Mittel: 2,28%

In folgender Tabelle sind die aus den gefundenen Mengen der Spaltungsprodukte berechneten Prozente C, H etc. zusammengestellt:

	Leucin	Tyrosin	Glutaminsäure	Asparaginsäure	Silbersalze I.	II.	III.
C.	22,918	0,912	0,0049	0,0703	1,243	0,155	0,190
H.	4,1388	0,0845	0,00067	0,0102	0,144	0,019	0,019
N.	4,4566	0,118	0,00104	0,0205	0,741	0,151	0,133
O.	10,186	0,4053	0,0047	0,0938	0,689	0,058	0,155

Summe:

C = 25,4725
H = 4,41617
N = 7,90114
O = 11,5518.

Prozentische Zusammensetzung des Hämoglobins, für C, H, N, S. Mittel aus 4 Analysen[10]), für Sauerstoff aus 3 Analysen:

54,72 C
6,99 H
17,52 N
0,59 S
19,73 O
0,42 Fe

Eine Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung vom Hämoglobin habe ich selbst ausgeführt und folgende Werte

[10]) Hoppe-Seyler u. Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 14, S. 289, Otto, ebenda, Bd. 7, S. 61. Bücheler, Hüfner, Gratulationsschrift an Ludwig 1886. Zinoffsky, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 10, S. 16.

erhalten: 0,2794 gr. Subst. gaben 0,5620 CO_2 und 0,1720 H_2O = 54,86 % C und 6,83 % H.

Vergleichen wir nun die gefundenen Werte mit der prozentischen Zusammensetzung des Hämoglobins, so ergiebt sich, dass wir beinahe die Hälfte Kohlenstoff, circa die Hälfte Stickstoff, $^2/_3$ Wasserstoff und etwas mehr als die Hälfte Sauerstoff in den Spaltungsprodukten wieder gefunden haben. Die andere Hälfte der Spaltungsprodukte fehlt uns also noch. Die quantitative Bestimmung ist eben infolge der Verluste, die sich nicht umgehen lassen, und aus Mangel an präcisen Methoden zur Isolierung der einzelnen Spaltungsprodukte sehr erschwert. Ich möchte diese Untersuchung nur als den Anfang zu meinen weiteren Arbeiten über die möglichst genaue Bestimmung der einzelnen Spaltungsprodukte ansehen. Denn nur auf diese Weise wird es gelingen, nach und nach alle im Eiweissmolekül vorhandenen Radikale zu isolieren. Das Hämoglobin wird sich als Ausgangsmaterial am besten dazu eignen, da es leicht in grösseren Mengen rein zu gewinnen ist. Reines Material ist ein Hauptfaktor, denn nur auf solchem kann eine genaue quantitative Bestimmung der einzelnen Spaltungsprodukte fussen.